

This Page Is Inserted by IFW Operations
and is not a part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning documents *will not* correct images,
Please do not report the images to the
Image Problem Mailbox.



INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(51) International Patent Classification: B01J 19/00, C07K 1/04	A1	(11) International Publication Number: WO 00/69553 (43) International Publication Date: 23 November 2000 (23.11.2000)
(21) International Application Number: PCT/DE00/01540 (22) International Filing Date: 12 May 2000 (12.05.2000) (30) Priority Data: 199 22 941.4 14 May 1999 (14.05.1999) DE (60) Parent Application or Grant EPIGENOMICS GMBH [/]; (). BRAUN, Aron [/]; (). HEUERMANN, Arno [/]; (). BRAUN, Aron [/]; (). HEUERMANN, Arno [/]; (). SCHUBERT, Klemens ; ().		Published
(54) Title: DEVICE AND METHOD FOR PHOTOLITHOGRAPHICALLY IRRADIATING BIOLOGICAL SUBSTANCES (54) Titre: PROCEDE ET DISPOSITIF D'EXPOSITION PHOTOLITHOGRAPHIQUE DE SUBSTANCES BIOLOGIQUES (57) Abstract <p>The invention relates to a device and method for photolithographically irradiating biological substances. Said device comprises at least one light source (A), a bundle of optical waveguides (F) and a control unit (B), whereby each optical waveguide can be independently controlled using light and/or light can be injected into each optical waveguide. The device is suited, in particular, for exposing DNA chips, PNA chips or peptide chips to light.</p> (57) Abrégé <p>L'invention concerne un procédé et un dispositif d'exposition photolithographique de substances biologiques. Ce dispositif comprend une source lumineuse (A), un faisceau de fibres optiques (F) et une unité de commande (B). Les conducteurs optiques peuvent être dans chaque cas amorcés avec de la lumière indépendamment les uns des autres et/ou de la lumière peut être injectée dedans. Ce dispositif s'utilise en particulier pour l'exposition de puces à ADN-PNA ou de peptide.</p>		

PCT

WELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM
Internationales Büro



INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

(51) Internationale Patentklassifikation ⁷ : B01J 19/00, C07K 1/04		A1	(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 00/69553
		(43) Internationales Veröffentlichungsdatum:	23. November 2000 (23.11.00)
<p>(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/DE00/01540</p> <p>(22) Internationales Anmeldedatum: 12. Mai 2000 (12.05.00)</p> <p>(30) Prioritätsdaten: 199 22 941.4 14. Mai 1999 (14.05.99) DE</p> <p>(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): EPIGE- NOMICS GMBH [DE/DE]; Kastanienallee 24, D-10435 Berlin (DE).</p> <p>(72) Erfinder; und</p> <p>(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): BRAUN, Aron [CH/DE]; Christinenstrasse 24, D-10119 Berlin (DE). HEUERMANN, Arno [DE/DE]; Steegerstrasse 70, D-13359 Berlin (DE).</p> <p>(74) Anwalt: SCHUBERT, Klemens; Joachimstrasse 9, D-10119 Berlin (DE).</p>		<p>(81) Bestimmungsstaaten: AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW, ARIPO Patent (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).</p> <p>Veröffentlicht Mit internationalem Recherchenbericht. Vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche zugelassenen Frist; Veröffentlichung wird wiederholt falls Änderungen eintreffen.</p>	
(54) Title: DEVICE AND METHOD FOR PHOTOLITHOGRAPHICALLY IRRADIATING BIOLOGICAL SUBSTANCES			
(54) Bezeichnung: VORRICHTUNG UND VERFAHREN ZUR PHOTOLITHOGRAPHISCHEN BELICHTUNG VON BIOLOGISCHEN STOFFEN			
(57) Abstract			
<p>The invention relates to a device and method for photolithographically irradiating biological substances. Said device comprises at least one light source (A), a bundle of optical waveguides (F) and a control unit (B), whereby each optical waveguide can be independently controlled using light and/or light can be injected into each optical waveguide. The device is suited, in particular, for exposing DNA chips, PNA chips or peptide chips to light.</p>			
(57) Zusammenfassung			
<p>Es wird eine Vorrichtung und ein Verfahren zur photolithographischen Belichtung von biologischen Stoffen beschrieben, umfassend mindestens eine Lichtquelle (A), ein Lichtleiterbündel (F) und eine Steuerungseinheit (B), wobei jeder der Lichtleiter unabhängig voneinander mit Licht ansteuerbar und/oder Licht in diesen einkoppelbar ist. Die Vorrichtung ist insbesondere zur Belichtung von DNA-, PNA- oder Peptid-Chips geeignet.</p>			

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AL	Albanien	ES	Spanien	LS	Lesotho	SI	Slowenien
AM	Armenien	FI	Finnland	LT	Litauen	SK	Slowakei
AT	Österreich	FR	Frankreich	LC	Luxemburg	SN	Senegal
AU	Australien	GA	Gabun	LV	Letland	SZ	Swasiland
AZ	Aserbaidschan	GB	Vereinigtes Königreich	MC	Monaco	TD	Tschad
BA	Bosnien-Herzegowina	GE	Georgien	MD	Republik Moldau	TG	Togo
BB	Barbados	GH	Ghana	MG	Madagaskar	TJ	Tadschikistan
BE	Belgien	GN	Guinea	MK	Die ehemalige jugoslawische Republik Mazedonien	TM	Turkmenistan
BF	Burkina Faso	GR	Griechenland	ML	Mali	TR	Türkei
BG	Bulgarien	HU	Ungarn	MN	Mongolei	TT	Trinidad und Tobago
BJ	Benin	IE	Irland	MR	Mauritanien	UA	Ukraine
BR	Brasilien	IL	Israel	MW	Malawi	UG	Uganda
BY	Belarus	IS	Island	MX	Mexiko	US	Vereinigte Staaten von Amerika
CA	Kanada	IT	Italien	NE	Niger	UZ	Usbekistan
CF	Zentralafrikanische Republik	JP	Japan	NL	Niederlande	VN	Vietnam
CG	Kongo	KE	Kenia	NO	Norwegen	YU	Jugoslawien
CH	Schweiz	KG	Kirgisistan	NZ	Neuseeland	ZW	Zimbabwe
CI	Côte d'Ivoire	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	PL	Polen		
CM	Kamerun	KR	Republik Korea	PT	Portugal		
CN	China	KZ	Kasachstan	RO	Rumänien		
CU	Kuba	LC	St. Lucia	RU	Russische Föderation		
CZ	Tschechische Republik	LI	Liechtenstein	SD	Sudan		
DE	Deutschland	LK	Sri Lanka	SE	Schweden		
DK	Dänemark	LR	Liberia	SG	Singapur		
EE	Estland						

Description

5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

5

**Vorrichtung und Verfahren zur photolithographischen Be-
lichtung von biologischen Stoffen**

10

5 Die Erfindung betrifft eine Vorrichtung und ein Verfahren zur photolithographischen Belichtung von biologischen Stoffen.

15

10 DNA-Chips sind kleinste, meist planare Oberflächen, auf welchen räumlich geordnet eine große Anzahl verschiedener Oligomere (kurze, einsträngige DNA-Moleküle) angebracht sind. Solche Chips werden beispielsweise zur parallelen Erkennung zahlreicher DNA-Sequenzen in einer präparierten Gewebeprobe verwendet. Dazu benetzt man die Chipoberfläche mit einer Lösung von einsträngigen DNA-Stücken aus der Gewebeprobe, worauf sich komplementär passende DNA-

15 Stücke aus der Lösung an die entsprechenden, an die Chipoberfläche angebrachten Oligomere anlagern (Hybridisierung). Danach bestimmt man mit einer geeigneten Methode wie z.B. Fluoreszenzmarkierung, an welchen Stellen auf dem Chip eine Hybridisierung stattgefunden hat. Wenn man weiss, wo auf dem Chip welche Oligomere angebracht sind, kann man somit Rückschlüsse auf DNA-Sequenzen in der Gewebeprobe machen. Dazu definiert man in der Regel auf der

20 Chip-Trägerfläche ein dichtes rechtwinkliges Raster. Auf jedem Rasterpunkt ist in Form eines kleinen Flecks genau eine Sorte von Oligomer angebracht. Die maximal mögliche Anzahl von verschiedenen DNA-Sequenzen auf dem Chip ist demzufolge gleich der Anzahl der Rasterpunkte. Da man

25 möglichst viele Sorten von Oligomeren auf einen Chip aufbringen will, die Chips aber gleichzeitig so klein wie möglich sein sollten, um effektiv hybridisiert werden zu können, ist es ein wichtiges Ziel bei der Herstellung von DNA-Chips, eine möglichst hohe Rasterdichte zu erreichen.

25

30

35

40

45

35

50

55

Im Stand der Technik sind verschiedene Verfahren zur DNA-Chip Herstellung bekannt.

1) Alle Oligomere werden auf herkömmliche Weise einzeln im Reagenzglas synthetisiert und danach an den vorgesehenen Rasterpunkten auf den Träger aufpipettiert, typischerweise von einer automatischen Micropipettieranlage. Diese Methode ist sehr aufwendig und teuer, da jedes Oligomer einzeln hergestellt bzw. gekauft und von Hand der Pipettieranlage zugeführt werden muss. Die Rasterdichte ist durch die hohe Winkelungenauigkeit der heute verfügbaren, typischerweise piezoelektrischen Mikropipetten stark limitiert.

2) Die Oligomere werden mit Hilfe einer automatischen Mikropipettieranlage direkt auf dem Chip synthetisiert. Auf jedem Rasterpunkt wird die dort vorgesehene Oligomerkette Baustein für Baustein (Nukleobasen) aufgebaut. Das chemische Verfahren ist grundsätzlich das selbe wie bei der herkömmlichen Oligomer-Synthese im Reagenzglas. Der Unterschied ist, dass alle Oligomere gleichzeitig, von einer einzigen automatischen Anlage direkt am vorgesehenen Bestimmungsort hergestellt werden. Die bei Methode 1) separaten Arbeitsschritte Oligomer-Synthese und Micropipettierung werden somit zu einem einheitlichen Arbeitsschritt zusammengefasst. Diese in situ Synthese läuft normalerweise wie folgt ab: Auf einem vorpräparierten Substrat tropft der Pipettierautomat sequentiell auf jedem Rasterpunkt die dort vorgesehene erste Nukleobase auf. Dies ist mechanisch nicht sehr aufwendig, da es nur 4 verschiedene Nukleobasen (C, T, G, A) gibt. Man kann dafür z.B. 4 aneinandergeschaltete Micropipetten verwenden. Nach dem Auftragen des ersten Nukleosidbausteins auf jedem Rasterpunkt wird das Substrat gewaschen und nach einem "Capping Schritt" die Schutzgruppen an den 5'-OH Funktionen entfernt, um die Reaktion mit dem jeweils

5 nachfolgenden Nukleosidbaustein zu ermöglichen. Danach
wird an jedem Rasterpunkt die zweite Nukleobase aufpipet-
tiert. Das Substrat wird dann wieder gewaschen und ent-
schützt. Auf diese Weise baut man Schritt für Schritt auf
10 5 jedem Rasterpunkt die jeweils erforderlichen Oligomerket-
ten auf. Diese Methode ist nicht besonders schnell, da
nacheinander auf jedem Rasterpunkt für jede Nukleobase
neu pipettiert werden muss. Wie bei Methode 1) ist die
15 Rasterdichte durch die Ungenauigkeit der Micropipetten
beschränkt. Die Ungenauigkeit wirkt sich hier noch
10 schlimmer aus, da jeder Rasterpunkt mehrmals nacheinander
auf möglichst identische Weise getroffen werden muss.

20 3) Die Oligomere werden wie bei 2) direkt auf dem Träger
15 synthetisiert, die gezielte Anbindung der richtigen
Nukleobasen an den richtigen Rasterpunkten geschieht je-
25 doch durch eine vollkommen parallele, photolithographi-
sche Technik anstelle von sequenziellen, zielgenauen Pi-
pettierschritten. Das Verfahren basiert darauf, dass man
20 mit Licht einer bestimmten Wellenlänge gezielt die 5'-OH
Schutzgruppen von Oligonukleotiden entfernen kann. Durch
geeignete örtliche Bestrahlungsmuster kann man somit Oli-
gonukleotid-Enden an genau jenen Rasterpunkten reaktions-
fähig machen, an denen man im nächsten Schritt eine neues
35 25 Nukleosid anbringen will. Bei vollständiger Benetzung der
Chipoberfläche mit einer Nukleotidbaustein-Lösung wird
somit nur an den vorher belichteten Stellen ein Nukleo-
tidbaustein angebunden, alle unbelichteten Stellen blei-
40 ben unverändert. Die örtlichen Belichtungsmuster werden
30 erzeugt, indem man eine microphotographische schwarz-
weiss Maske zwischen dem Substrat und der Lichtquelle po-
sitioniert, die alle Rasterstellen abdeckt, die nicht re-
aktionsfähig gemacht werden sollen. Die Verlängerung der
45 Oligomer-Ketten auf allen Rasterpunkten um eine Nukleoba-
35 se geschieht demnach wie folgt: Mit Hilfe einer ersten
Maske werden genau jene Rasterpunkte belichtet, welche um

5 die erste der 4 möglichen Sorten von Nukleobasen (z.B. C)
erweitert werden müssen. Danach wird der Chip mit einer
Lösung des entsprechenden Nukleotidbausteins benetzt,
10 worauf nur die belichteten Punkte um diese Base verlän-
5 gert werden. Da die neu angebundenen Basen noch alle über
eine Schutzgruppe verfügen, werden sie in den folgenden
Schritten nicht weiter reagieren, bis ihre Schutzgruppen
15 durch eine weitere Belichtung abgespaltet werden. Nach
diesem Reaktionsschritt wird der Chip gewaschen. Nun wer-
10 den mit Hilfe einer zweiten Maske genau jene Rasterstel-
len belichtet, welche um die zweite der 4 möglichen Sor-
ten von Nukleobasen (z.B. T) erweitert werden müssen.
20 Darauf wird der Chip wiederum mit einer Lösung des ent-
sprechenden Nukleotidbausteins benetzt und die belichte-
15 ten Stellen dadurch um diese Base verlängert. Genauso
verfährt man für die verbleibenden zwei Basen (z.B. G und
25 A). Für die Verlängerung aller Oligomere um eine Nukleo-
base benötigt man demzufolge vier Belichtungsschritte
bzw. 4 Photomasken. Diese Methode ist wegen der hohen
20 Parallelität sehr effizient, zudem ist sie wegen der ho-
hen Präzision, die mit Photolithographie erreicht werden
30 kann, geeignet, um sehr hohe Rasterdichten zu erzielen.
Allerdings ist die Methode sehr aufwendig und somit teu-
er, da man für die Herstellung einer bestimmten Sorte von
35 Chip zuerst eine grosse Anzahl von Photomasken erzeugen
muss. Bei hohen Rasterdichten werden zudem hohe Anforde-
rungen an die Positionierungsgenauigkeit der Masken wäh-
rend der Belichtung gestellt, die effizient nur durch
40 Verwendung von teuren Apparaturen erfüllt werden können.

30 4) Es wird dasselbe Verfahren angewandt wie bei 3), nur
verwendet man anstelle der grossen Zahl von photographi-
45 schen Masken eine einzige, transmissive Flüssigkristall-
anzeige, die elektronisch angesteuert wird und als dyna-
35 mische Maske dient. Diese Methode ist einfach und billig,
da keine photographischen Masken erzeugt werden müssen

5 und das Positionierungsproblem entfällt. Ein mögliches
Problem dieser Methode ist der limitierte optische Kon-
trast der heute verfügbaren Flüssigkristallanzeigen (ma-
ximal 1:100). Das Lichtintensitätsverhältnis zwischen be-
10 5 lichteten und abgedeckten Punkten wird dadurch reduziert,
was eine Ausbeuteverminderung bei der Oligomersynthese
zur Folge haben kann.

15 Diese Methoden nach dem Stand der Technik weisen eine
10 Reihe von Nachteilen auf. Unter den oben beschriebenen
Herstellungsmethoden für DNA-Chips ist die photolithogra-
phische Methode mit dynamischen Flüssigkristall-Masken
20 die einzige, die eine einfache, billige und zuverlässige
Herstellung von Chips mit hoher Rasterdichte erlaubt. Der
15 mangelhafte Kontrast der Flüssigkristallanzeigen hat je-
doch eine Verminderung der Qualität der Oligomerpunkte
25 zur Folge, was letztendlich die Detektionsempfindlichkeit
des Chips vermindert.

20 Aufgabe der vorliegenden Erfindung ist es daher, eine
30 Vorrichtung zu schaffen, welche die Nachteile des Standes
der Technik überwindet. Eine weitere Aufgabe der Erfindung
ist die Schaffung eines weiteren Verfahrens zur photoli-
thographischen Belichtung biologischer Stoffe.

35 25 Die Aufgabe wird durch die kennzeichneten Merkmale des
Hauptanspruchs gelöst. Vorteilhafte Ausgestaltungen der
Erfindung sind in den abhängigen Unteransprüchen gekenn-
40 zeichnet.

30 Die Aufgabe wird erfindungsgemäß dadurch gelöst, daß eine
Vorrichtung zur photolithographischen Belichtung von bio-
45 logischen Stoffen geschaffen wird, umfassend mindestens
eine Lichtquelle, ein Lichtleiterbündel und eine Steue-
35 rungseinheit, wobei jeder der Lichtleiter unabhängig von-

5 einander mit Licht ansteuerbar und/oder Licht in diesen einkoppelbar ist.

10 5 Bevorzugt ist es dabei, daß die Lichtquelle monochromatisches oder kontinuierliches Licht in einem Wellenlängenbereich von 100 bis 800 nm aussendet. Besonders bevorzugt ist es, daß die Lichtquelle ein Laser, eine Leuchtdiode, 15 eine Metalldampflampe, eine Gasentladungslampe, eine Gasanregungslampe, eine Glühfadenlampe oder eine Lichtbogenlampe ist. 20

Weiterhin vorteilhaft ist es, daß zur Ansteuerung der einzelnen Lichtleiter Leuchtdioden und/oder optische Schalter angeordnet sind. 25

15 20 Besonders vorteilhaft ist es ferner, daß zu belichtende Stoffe direkt an den Enden der Lichtleiter aufgebracht sind. Bevorzugt ist es aber auch, daß zu belichtende Stoffe auf einem separaten Träger angeordnet sind. 30

30 Ganz besonders bevorzugt ist es, daß zu belichtende Stoffe auf einem separaten Träger angeordnet sind, wobei dieser Träger ein DNA-Chip, ein PNA-Chip oder ein Peptid-Chip ist. 35

25 35 Erfindungsgemäß weist die Vorrichtung vorzugsweise zusätzlich mindestens einen Detektor auf. 40

40 30 Bevorzugt ist dabei, daß mindestens einer der Detektoren derart angeordnet ist, daß dieser das zur Belichtung verwendete Licht erfaßt und/oder mindestens ein Detektor derart angeordnet ist, daß dieser das von den belichteten Stoffen reflektierte und/oder durch Fluoreszenz erzeugte Licht erfaßt und daß zur Lichtführung für die Detektoren 35 gegebenenfalls Lichtleiter und/oder Lichtleiterbündel 50

5 vorgesehen sind. Insbesondere bevorzugt ist hierbei, daß die Detektoren CCD-Detektoren und/oder CCD-Kamera sind.

10 5 Ganz besonders bevorzugt ist es, daß zur Ansteuerung der einzelnen Lichtleiter eine dynamische Maske vorgesehen ist. Besonders bevorzugt ist es auch, daß zur Ansteuerung der einzelnen Lichtleiter ein Satz von statischen Masken vorgesehen ist.

15 10 Äußerst bevorzugt ist eine erfindungsgemäße Vorrichtung, wobei die Lichtquelle ein solches Spektrum von Wellenlängen emittiert, welches die Entschützung von Nukleotiden, Nukleotidanaloga und Peptid-Nukleinsäurebausteinen zur Kettenverlängerung und zum Aufbau von Oligomeren bewirkt und daß zwischen dieser Lichtquelle und dem Substrat ein Bündel von Lichtleiterfasern angeordnet ist, in welche
20 15 jeweils durch gezielte Ansteuerung selektiv Licht einkoppelbar ist und daß hinter dem Lichtleiterbündel die Festphase, auf der die Oligomersynthese stattfindet, präzise und starr positioniert ist und daß die Festphase, auf
25 20 welcher die Oligomersynthese stattfindet, in einer Kammer angeordnet ist, in die durch weitere Vorrichtungen die zur DNA oder PNA Synthese notwendigen Lösungen und/oder Reagenzien an diese Festphase heranführbar sind.

30 35 25 Bevorzugt ist es erfindungsgemäß hierbei, daß man als Festphase, auf der die Oligomersynthese stattfindet, einen separaten Träger anordnet. Erfindungsgemäß bevorzugt
40 30 ist ferner, daß die Enden der Lichtleiterfasern selbst die Festphase zur Durchführung der Oligomersynthese sind.

45 35 Ein weitere Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist ein Verfahren zur photolithographischen Belichtung von biologischen Stoffen, wobei man diese auf einer Oberfläche oder am Ende eines Lichtleiters anordnet und mittels Licht, welches durch Lichtleiter geführt ist und aus ei-

50

55

5 ner Lichtquelle stammt, welche am anderen Ende der Licht-
leiter angeordnet ist, belichtet, wobei man jeden Punkt,
welcher einem Lichtleiterende gegenüberliegt, unabhängig
10 von den anderen Punkten belichtet, wobei man das Belich-
5 tungsmuster mittels einer Steuerungseinheit vorwählt.

Bevorzugt ist es hierbei nämlich zur Belichtung von DNA-
oder PNA-Chips, daß man Licht der Wellenlängen verwendet,
15 welches die Entschützung von Nukleotiden, Nukleotidanaloga
10 und Peptid-Nukleinsäurebausteinen zur Kettenverlängerung
und zum Aufbau von Oligomeren bewirkt und daß man
zwischen dieser Lichtquelle und dem Substrat ein Bündel
20 von Lichtleiterfasern anordnet, in welche jeweils durch
gezielte Ansteuerung selektiv Licht eingekoppelt wird und
15 daß man hinter dem Lichtleiterbündel die Festphase, auf
der die Oligomersynthese stattfindet, präzise und starr
25 positioniert und daß man die Festphase, auf welcher die
Oligomersynthese stattfindet, in einer Kammer anordnet,
in die man durch weitere Vorrichtungen die zur DNA oder
20 PNA Synthese notwendigen Lösungen und/oder Reagenzien an
30 diese Festphase heranführt.

Erfindungsgemäß bevorzugt ist ferner, daß man nach er-
folgter Oligomerisierung auf den DNA- oder PNA-Chips wei-
35 25 terhin die nachfolgenden Hybridisierungen mit einer Ziel-
DNA durchführt.

Erfindungsgemäß ist ferner ein Verfahren, wobei man zur
40 Durchführung des Verfahrens eine erfindungsgemäße Vor-
30 richtung verwendet.

Überraschenderweise wurde gefunden, daß die erfindungsge-
45 mäßige Vorrichtung eine einfache und preiswerte photolitho-
graphische Herstellung von DNA-Chips hoher Rasterdichte
35 mit einem Belichtungscontrast von weit über 1:100 ermög-
lichen. Dadurch wird erstmals die einfache Produktion von

5 qualitativ hochstehenden DNA-Chips in jedem beliebigen Labor möglich.

10 5 Die erfindungsgemäße Vorrichtung und das Verfahren lösen die gestellte Aufgabe auf völlig neuartige Art und Weise durch Kombination kommerziell erhältlicher Komponenten. Es ermöglicht die billige Herstellung von DNA-Chips in einer Qualität, wie sie vorher nicht möglich war.

15 10 Das grundlegende Konzept der erfindungsgemäßen Vorrichtung und des Verfahrens besteht darin, dass man ein bestimmtes Belichtungsmuster auf dem Substrat nicht durch gezielte Abdeckung von Rasterpunkten mit Hilfe einer statischen oder dynamischen Maske erzeugt, sondern indem man 20 individuell jedem zu belichtenden Rasterpunkt das Licht direkt über einen optischen Lichtleiter zuführt. Es muss also über jedem Rasterpunkt das Ende einer optischen Lichtleiterfaser so angebracht sein, dass bei Lichteinkopplung in die Faser das am Ende austretende Licht genau den entsprechenden Rasterpunkt beleuchtet. Es werden 25 folglich genau so viele Lichtleiterfasern benötigt wie Rasterpunkte vorgesehen sind. Um so beliebige Belichtungsmuster erzeugen zu können, muss unabhängig für jede einzelne Lichtleiterfaser gesteuert werden können, ob ihr 30 zu einem gegebenen Zeitpunkt Licht eingekoppelt wird oder nicht. Durch gezieltes Einkoppeln bzw. nicht Einkoppeln von Licht in die richtigen Fasern kann man somit bei jedem Belichtungsschritt ausschliesslich jene Rasterpunkte belichten, die aktiviert werden müssen, während man alle 35 40 30 anderen unbelichtet lässt.

45 Das gezielte Einkoppeln von Licht in die jeweils richtigen Fasern muss vollautomatisch elektronisch gesteuert werden können, damit die Methode einfach durchführbar 35 ist. Eine mögliche technische Lösung ist, am Anfang jedes Lichtleiters eine eigene, elektrisch ein- und ausschaltba-

50

55

re Lichtquelle (z.B. eine Laserdiode richtiger Wellenlänge) anzubringen. Eine andere Möglichkeit ist die Verwendung von kommerziell erhältlichen, elektrisch ansteuerbaren optischen Schaltern. Es handelt sich dabei um eine Hardware-Komponente mit 2 Anschlüssen für 2 Lichtleiterfasern und einem elektrischen Steuerungseingang. Durch ein elektrisches Signal am Steuerungseingang kann bestimmt werden, ob die beiden Lichtleiterfasern optisch verbunden werden sollen oder nicht. Für jeden Rasterpunkt benötigt man somit einen optischen Schalter und zwei Lichtleiterfasern. Dem freien Ende der ersten Faser koppelt man permanent Licht ein, das freie Ende der zweiten Faser dient als Lichtausgang und wird über dem jeweiligen Rasterpunkt befestigt. Für die Lichteinkopplung genügt eine einzige Lichtquelle, wenn man alle Eingangsfasern entsprechend bündelt.

Für die elektrische Steuerung sind beide Methoden der gezielten Lichteinkopplung gleichwertig. Man benötigt lediglich eine Ansteuerelektronik, die jeden Rasterpunkt individuell adressieren kann. Grundsätzlich spielt es keine grosse Rolle, ob man dabei Leuchtdioden oder optische Schalter ansteuert.

Eine weitere Möglichkeit zur gezielten Lichteinkopplung in die einzelnen Fasern des Lichtleiterfaserbündels ist die Verwendung von automatisch positionierten statischen Masken (z.B. Photo- oder Lochmasken) oder einer elektronisch ansteuerbaren dynamischen Maske (z.B. LCD), welche man zwischen die Lichtquelle und die Eingangsseite des Faserbündels bringt. Mit den Masken kann man gezielt jene Fasereingänge verdecken, in die beim jeweiligen Belichtungsschritt kein Licht eingekoppelt werden soll. Die Masken können dabei geometrisch anders angeordnet und insbesondere viel größer sein als die zu belichtende Arrayfläche, da auf der Einkopplungsseite das Lichtleiter-

bündel beliebig aufgefächert bzw. in die einzelnen Fasern aufgetrennt werden kann.

Für die maximal erzielbare Chip-Rasterdichte ist es grundsätzlich irrelevant, wieviel Platz das Lichteinkopp-
lungssystem (einzelne Lichtquellen, optische Schalter, statische oder dynamische Masken) beansprucht. Die Rasterdichte ist allein davon abhängig, wie dicht man die Faserenden bündeln kann, an denen das Licht austritt.

Diese Möglichkeit der geometrischen Verdichtung stellt den wesentlichsten Nutzen der Erfindung dar. Bei einem typischen Faserdurchmesser um 100 Mikrometer kann man auf der Belichtungsseite ungefähr 10000 Rasterpunkte auf einem Quadratzentimeter erreichen, was für viele Anwendungen hinreichend ist.

Falls es zu aufwendig ist, die über dem Substrat anzubringenden Lichtleiterfaserenden in einem gleichmässigen, rechtwinkligen Gitter raster anzuordnen, kann man auch ein ungeordnetes Faserbündel über dem Substrat befestigen.

Die Punkte auf einem so angefertigten Chip sind dann nicht mehr rasterförmig, sondern zufällig und unregelmäßig angeordnet. Trotzdem sind bei allen Chips, die mit derselben Lichtleiteranordnung hergestellt worden sind, die Positionen der Punkte identisch. Grundsätzlich kann man wissen, welche Oligomersorte an welcher Stelle des Chips synthetisiert worden ist. Es genügt für eine gegebene Syntheseanordnung mit zufälliger

Lichtfaserbündelung, ein einziges Mal nacheinander jedem einzelnen Lichtleiter Licht einzukoppeln, und mit einem hochauflösendem CCD-Detektor, der in die Substratebene gelegt wird, die Position der austretenden Lichtkegel festzustellen. Auf diese Weise kann man eine vollständige Tabelle mit der Zuordnung aller Ansteuerungsadressen zu den entsprechenden x-y Substratpositionen erstellen.

Diese Information verwendet man später bei der Auswertung aller Chips, die mit der entsprechenden Anordnung

5 Chips, die mit der entsprechenden Anordnung hergestellt werden.

10 5 Für eine Auswertung nach dem Fluoreszenzmarkierungsverfahren kann man optional die selbe ungerasterte Lichtleiteranordnung verwenden, die man bei der Herstellung verwendet hat, nur dass man nun am anderen Faserende nicht
15 10 Licht einkoppelt, sondern mit Photodetektoren das jetzt stellenweise auf der Substratseite eintretende Fluoreszenzlicht misst. Dazu muss man an Stelle der Lichtquelle(n) an jedem Faserende einen separaten Photodetektor anbringen. Ein solches optisches Lesesystem mit Lichtleitern
20 15 kann die Chip-Detektion gegenüber der herkömmlichen Detektionsmethode mit CCD-Detektoren erhebliche vereinfachen.

25 Eine sehr interessante und neuartige Anwendungsvariante des hier beschriebenen DNA-Chip Syntheseverfahrens ist die Synthese von Oligomeren direkt auf den Lichtleiterenden
30 20 anstatt auf einem separaten Substrat. Dies kann erreicht werden, indem man die Lichtleiterfaser-Endflächen, durch die das Licht austritt, auf ähnliche Weise chemisch präpariert wie sonst bei herkömmlichen DNA-Chips
35 25 Trägerfläche. Dadurch wird jedes Lichtleiterende selber zu einem kleinen, unabhängigen Träger, auf welchem man nun mit der üblichen photolithographischen Chemie genau eine Sorte von Oligomer synthetisieren kann. Das photoaktivierende Licht wird somit nicht mehr von aussen auf die
40 30 Trägeroberfläche aufgestrahlt, sondern tritt direkt an der Trägeroberfläche aus dem transparenten, lichtleitenden Trägermaterial aus. Statt einer einzigen Trägerfläche mit vielen verschiedenen, kleinen Oligomerpunkten hat man
45 35 nun eine Vielzahl von getrennten kleinen Trägerflächen mit je einer Sorte von Oligomer darauf. Wie bei den herkömmlichen Chips müssen die Oligomerpunkte dicht beieinander liegen, damit sie für eine effiziente Hybridisie-

50

55

5 rung verwendet werden können. Dies kann wie oben be-
 schrieben durch dichte Bündelung der Faserenden erreicht
 werden.

10 5 Bei einer solchen Synthese auf Lichtleiterenden bleibt
 die hergestellte Oligomerpunkteschar untrennbar mit der
 zur Herstellung verwendeten Vorrichtung verbunden. Hybri-
15 disierung und anschliessende Detektion werden dann eben-
 falls an den Lichtleiterenden vorgenommen, wobei man für
20 10 eine Fluoreszenzdetektion wieder die Lichtleiter in umge-
 kehrter Richtung zum Auslesen der Fluoreszenzsignale ver-
 wendet. Nach einem Synthese-Hybridisierung-
25 Detektionszyklus kann man die Lichtleiterfaserenden
 chemisch reinigen und die Vorrichtung somit für eine Neue
30 15 Synthese bereitmachen.

25 Die vorliegende Erfindung soll anhand der beigefügten
 Zeichnung näher erläutert werden.

30 20 Es zeigen:

35 25 Fig. 1 den schematischen Aufbau einer ersten Ausführungs-
 form der erfindungsgemäßen Vorrichtung, bei welcher die
 Ansteuerung der Fasern durch optische Schalter darge-
 stellt ist;

40 30 Fig. 2 den schematischen Aufbau einer zweiten Ausführungs-
 form der erfindungsgemäßen Vorrichtung, bei welcher die
 Ansteuerung der Fasern durch einzelne Lichtquellen darge-
 stellt ist;

45 Fig. 3 den schematischen Aufbau während der Belichtung
 eines separaten Trägers (Chip) und

Fig. 4 den schematischen Aufbau während der Belichtung, wobei sich das Substrat direkt an den faserenden befindet.

In Figur 1 ist ein erstes Ausführungsbeispiel einer erfindungsgemäßen Vorrichtung dargestellt. Aus der Lichtquelle A wird mittels der Lichtleiter F das Licht über die elektrisch angesteuerten optischen Schalter B auf den Array-Träger C geleitet. Die Steuerung S, vorzugsweise ein Computer, sorgt für die entsprechende Ansteuerung der einzelnen Schalter B in vorgegebener Weise in Form einer dynamischen oder statischen Maske.

In Figur 2 ist ein zweites Ausführungsbeispiel einer erfindungsgemäßen Vorrichtung dargestellt. Aus einer Vielzahl von der Lichtquellen A wird mittels der Lichtleiter F das Licht auf den Array-Träger C geleitet. Die Steuerung S, vorzugsweise ein Computer, sorgt für die entsprechende Ansteuerung der einzelnen Schalter A in vorgegebener Weise. Auch hier kann die Ansteuerung in Form einer dynamischen oder statischen Maske erfolgen.

Figur 3 zeigt im Detail, wie die einzelnen Substratpunkte E auf dem Array-Träger C durch die Lichtleiterfasern F belichtet werden.

In Figur 4 ist gezeigt, daß die Substrate direkt an den Enden der Lichtleiterfasern F angeordnet sind.

Dem Fachmann ist klar, wie die einzelnen Bauteile in einer erfindungsgemäßen Vorrichtung anzuordnen sind. Auch die entsprechende Programmierung der Steuerung mittels Computerprogrammen ist dem Fachmann an sich bekannt.

5

Bezugszeichenliste

10

- A: Lichtquelle
- 5 B: elektrisch angesteuerter optischer Schalter
- C: Array-Träger
- D: Substrat an den Faserenden
- E: Substratpunkte auf dem Array-Träger
- 15 F: Lichtleiterfaser
- 10 S: Steuerung (Computer)

20

25

30

35

40

45

50

55

Claims

5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

5

Patentansprüche

10

5

1. Vorrichtung zur photolithographischen Belichtung von biologischen Stoffen, umfassend mindestens eine Lichtquelle, ein Lichtleiterbündel und eine Steuerungseinheit, wobei jeder der Lichtleiter unabhängig voneinander mit Licht ansteuerbar und/oder Licht in diesen einkoppelbar ist.

15

10

20

15

2. Vorrichtung gemäß Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Lichtquelle monochromatisches oder kontinuierliches Licht in einem Wellenlängenbereich von 100 bis 800 nm aussendet.

25

20

3. Vorrichtung gemäß Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, daß die Lichtquelle ein Laser, eine Leuchtdiode, eine Metalldampflampe, eine Gasentladungslampe, eine Gasanregungslampe, eine Glühfadenlampe oder eine Lichtbogenlampe ist.

30

35

25

4. Vorrichtung gemäß einem der voranstehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß zur Ansteuerung der einzelnen Lichtleiter Leuchtdioden und/oder optische Schalter angeordnet sind.

40

30

5. Vorrichtung gemäß einem der voranstehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß zu belichtende Stoffe direkt an den Enden der Lichtleiter aufgebracht sind.

45

6. Vorrichtung gemäß einem der voranstehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß zu belichtende Stoffe auf einem separaten Träger angeordnet sind.

35

7. Vorrichtung gemäß einem der voranstehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß zu belichtende Stoffe auf

50

55

5

einem separaten Träger angeordnet sind, wobei dieser Träger ein DNA-Chip, ein PNA-Chip oder ein Peptid-Chip ist.

10

- 5 8. Vorrichtung gemäß einem der voranstehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die Vorrichtung zusätzlich mindestens einen Detektor umfaßt.

15

- 10 9. Vorrichtung gemäß Anspruch 8, dadurch gekennzeichnet, daß mindestens einer der Detektoren derart angeordnet ist, daß dieser das zur Belichtung verwendete Licht erfaßt und/oder mindestens ein Detektor derart angeordnet ist, daß dieser das von den belichteten Stoffen reflektierte und/oder durch Fluoreszenz erzeugte Licht erfaßt und daß zur Lichtführung für die Detektoren gegebenenfalls Lichtleiter und/oder Lichtleiterbündel vorgesehen sind.

20

15

25

- 20 10. Vorrichtung gemäß einem der Ansprüche 8 oder 9, dadurch gekennzeichnet, daß die Detektoren CCD-Detektoren und/oder CCD-Kameras sind.

30

- 35 25 11. Vorrichtung gemäß einem der voranstehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß zur Ansteuerung der einzelnen Lichtleiter eine dynamische Maske vorgesehen ist.

35

- 40 30 12. Vorrichtung gemäß einem der voranstehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß zur Ansteuerung der einzelnen Lichtleiter ein Satz von statischen Masken vorgesehen ist.

40

- 45 35 13. Vorrichtung gemäß einem der voranstehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die Lichtquelle ein solches Spektrum von Wellenlängen emittiert, welches die Entschützung von Nukleotiden, Nukleotidanaloga und

45

50

55

- 5 Peptid-Nukleinsäurebausteinen zur Kettenverlängerung
und zum Aufbau von Oligomeren bewirkt und daß zwi-
schen dieser Lichtquelle und dem Substrat ein Bündel
10 von Lichtleiterfasern angeordnet ist, in welche je-
5 weils durch gezielte Ansteuerung selektiv Licht ein-
koppelbar ist und daß hinter dem Lichtleiterbündel
die Festphase, auf der die Oligomersynthese stattfin-
det, präzise und starr positioniert ist und daß die
15 Festphase, auf welcher die Oligomersynthese stattfin-
det, in einer Kammer angeordnet ist, in die durch
10 weitere Vorrichtungen die zur DNA oder PNA Synthese
notwendigen Lösungen und/oder Reagenzien an diese
20 Festphase heranführbar sind.
- 15 14. Vorrichtung gemäß Anspruch 13, dadurch gekennzeich-
net, daß man als Festphase, auf der die Oligomer-
25 synthese stattfindet, einen separaten Träger anord-
net.
- 20 15. Vorrichtung gemäß Anspruch 13, dadurch gekennzeich-
30 net, daß die Enden der Lichtleiterfasern selbst die
Festphase zur Durchführung der Oligomersynthese sind.
- 35 16. Verfahren zur photolithographischen Belichtung von
25 biologischen Stoffen, wobei man diese auf einer Ober-
fläche oder am Ende eines Lichtleiters anordnet und
mittels Licht, welches durch Lichtleiter geführt ist
und aus einer Lichtquelle stammt, welche am anderen
40 Ende der Lichtleiter angeordnet ist, belichtet, wobei
30 man jeden Punkt, welcher einem Lichtleiterende ge-
genüberliegt, unabhängig von den anderen Punkten be-
lichtet, wobei man das Belichtungsmuster mittels ei-
45 ner Steuerungseinheit vorwählt.
- 35 17. Verfahren gemäß Anspruch 16, nämlich zur Belichtung
von DNA- oder PNA-Chips, dadurch gekennzeichnet, daß
50

5 man Licht der Wellenlängen verwendet, welches die
Entschützung von Nukleotiden, Nukleotidanaloga und
10 Peptid-Nukleinsäurebausteinen zur Kettenverlängerung
und zum Aufbau von Oligomeren bewirkt und daß man
5 zwischen dieser Lichtquelle und dem Substrat ein Bündel
von Lichtleiterfasern anordnet, in welche jeweils
durch gezielte Ansteuerung selektiv Licht eingekop-
15 pelt wird und daß man hinter dem Lichtleiterbündel
die Festphase, auf der die Oligomersynthese stattfindet,
10 präzise und starr positioniert und daß man die
Festphase, auf welcher die Oligomersynthese stattfindet,
20 in einer Kammer anordnet, in die man durch weitere
Vorrichtungen die zur DNA oder PNA Synthese notwendigen
15 Lösungen und/oder Reagenzien an diese Festphase
heranführt.

25 18. Verfahren gemäß Anspruch 16, dadurch gekennzeichnet,
daß man nach erfolgter Oligomerisierung auf den DNA-
oder PNA-Chips weiterhin die nachfolgenden Hybridisierungen
20 mit einer Ziel-DNA durchführt.

30 19. Verfahren gemäß Anspruch 16, dadurch gekennzeichnet,
daß man zur Durchführung des Verfahrens eine Vorrichtung
gemäß Anspruch 1 verwendet.

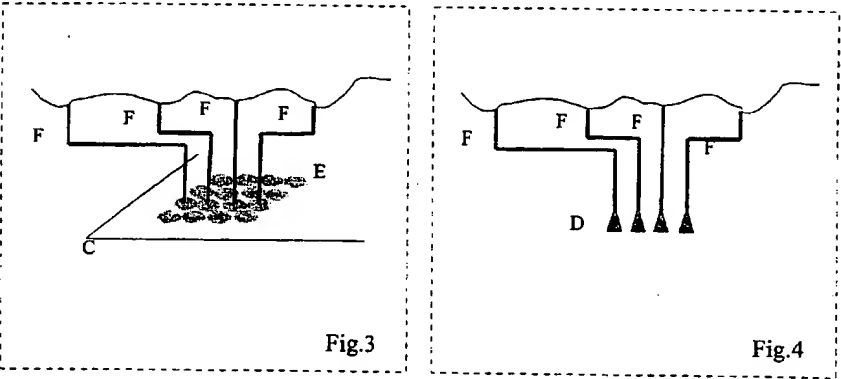
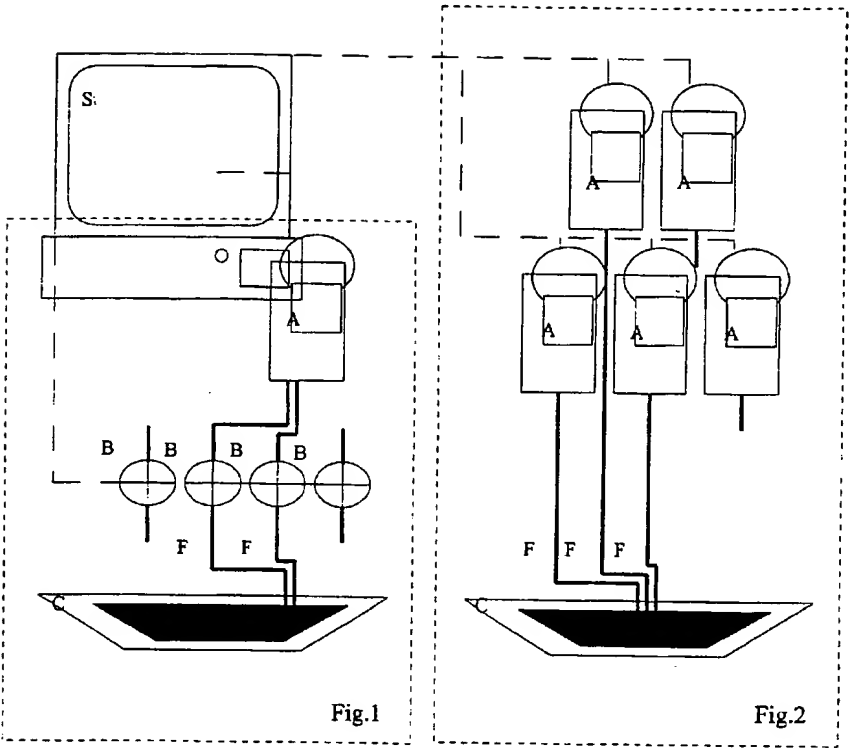
35 25

40

45

50

55



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/DE 00/01540A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 7 B01J19/00 C07K1/04

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
IPC 7 B01J C07K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

WPI Data, PAJ, EPO-Internal

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 5 510 270 A (FODOR STEPHEN P A ET AL) 23 April 1996 (1996-04-23) column 6, line 59 - line 60 column 7, line 18 - line 20 column 13, line 3 -column 14, line 26 column 15, line 46 -column 18, line 21 figures 1,8A ---	1-3,5,6, 11-17,19
A	US 5 293 437 A (NIXON MICHAEL A) 8 March 1994 (1994-03-08) column 2, line 43 -column 3, line 11 --- -/--	1-4,16

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"S" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

29 September 2000

Date of mailing of the international search report

09/10/2000

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Krametz, E

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/DE 00/01540

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	PEASE A C ET AL: "LIGHT-GENERATED OLIGONUCLEOTIDE ARRAYS FOR RAPID DNA SEQUENCE ANALYSIS" PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF USA, US, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCE. WASHINGTON, vol. 91, 1 May 1994 (1994-05-01), pages 5022-5026, XP000196311 ISSN: 0027-8424 page 5022, right-hand column, paragraph 4 -page 5023, left-hand column, paragraph 1 ----	1,2,6,7, 13,14, 16,17
A	US 5 571 639 A (HUBBELL EARL A ET AL) 5 November 1996 (1996-11-05) column 16, line 52 -column 18, line 12 figure 10 ----	1,16
A	GB 2 270 189 A (THERMOTOR LIMITED) 2 March 1994 (1994-03-02) page 1, line 7 - line 19 ----	11
P,A	DE 198 23 454 A (EPIGENOMICS GMBH) 25 November 1999 (1999-11-25) column 2, line 42 -column 4, line 56 figure 2 -----	1,6-8, 10,11, 13,14, 16,17

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/DE 00/01540

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 5510270 A	23-04-1996	US 5405783 A	11-04-1995
		US 5143854 A	01-09-1992
		US 5744305 A	28-04-1998
		US 5445934 A	29-08-1995
		AT 110738 T	15-09-1994
		AT 175421 T	15-01-1999
		AU 651795 B	04-08-1994
		AU 5837190 A	07-01-1991
		AU 672723 B	10-10-1996
		AU 7765594 A	04-05-1995
		BR 9007425 A	21-07-1992
		CA 2054706 A	08-12-1990
		DE 69012119 D	06-10-1994
		DE 69012119 T	22-12-1994
		DE 69032888 D	18-02-1999
		DE 69032888 T	29-07-1999
		DK 476014 T	14-11-1994
		EP 0476014 A	25-03-1992
		EP 0619321 A	12-10-1994
		EP 0902034 A	17-03-1999
		EP 0953835 A	03-11-1999
		ES 2058921 T	01-11-1994
		ES 2129101 T	01-06-1999
		GB 2248840 A,B	22-04-1992
		HK 61395 A	05-05-1995
		HK 64195 A	05-05-1995
		HU 59938 A	28-07-1992
		IL 94551 A	30-03-1995
		JP 11315095 A	16-11-1999
		JP 11021293 A	26-01-1999
		JP 4505763 T	08-10-1992
		KR 9701577 B	11-02-1997
		KR 9701578 B	11-02-1997
		WO 9015070 A	13-12-1990
		NL 191992 B	01-08-1996
		NL 9022056 T	02-03-1992
		NO 301233 B	29-09-1997
		NZ 233886 A	25-02-1993
		SG 13595 G	16-06-1995
		US 5744101 A	28-04-1998
		US 5489678 A	06-02-1996
		US 5889165 A	30-03-1999
		US 5753788 A	19-05-1998
		US 5547839 A	20-08-1996
		US 5770456 A	23-06-1998
		US 5800992 A	01-09-1998
		US 5902723 A	11-05-1999
		US 5424186 A	13-06-1995
		US 5871928 A	16-02-1999
US 5293437 A	08-03-1994	NONE	
US 5571639 A	05-11-1996	US 5593839 A	14-01-1997
		US 5856101 A	05-01-1999
GB 2270189 A	02-03-1994	NONE	
DE 19823454 A	25-11-1999	AU 4896899 A	06-12-1999

Form PCT/ISA210 (patent family annex) (July 1992)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/DE 00/01540

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
DE 19823454 A		WO 9960156 A	25-11-1999

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/DE 00/01540

A. KLASSTFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
IPK 7 B01J19/00 C07K1/04

Nach der internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)
IPK 7 B01J C07K

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

WPI Data, PAJ, EPO-Internal

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	US 5 510 270 A (FODOR STEPHEN P A ET AL) 23. April 1996 (1996-04-23) Spalte 6, Zeile 59 - Zeile 60 Spalte 7, Zeile 18 - Zeile 20 Spalte 13, Zeile 3 - Spalte 14, Zeile 26 Spalte 15, Zeile 46 - Spalte 18, Zeile 21 Abbildungen 1,8A ---	1-3,5,6, 11-17,19
A	US 5 293 437 A (NIXON MICHAEL A) 8. März 1994 (1994-03-08) Spalte 2, Zeile 43 - Spalte 3, Zeile 11 --- -/-	1-4,16

☒ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

☒ Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderscher Tätigkeit beruhend betrachtet werden

"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderscher Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

"Z" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

29. September 2000

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

09/10/2000

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde

Europäisches Patentamt, P.B. 5618 Patentaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3018

Bevollmächtigter Bediensteter

Krametz, E

1

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/DE 00/01540

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	<p>PEASE A C ET AL: "LIGHT-GENERATED OLIGONUCLEOTIDE ARRAYS FOR RAPID DNA SEQUENCE ANALYSIS"</p> <p>PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF USA,US,NATIONAL ACADEMY OF SCIENCE. WASHINGTON,</p> <p>Bd. 91, 1. Mai 1994 (1994-05-01), Seiten 5022-5026, XP000196311</p> <p>ISSN: 0027-8424</p> <p>Seite 5022, rechte Spalte, Absatz 4 -Seite 5023, linke Spalte, Absatz 1</p> <p>---</p>	<p>1,2,6,7, 13,14, 16,17</p>
A	<p>US 5 571 639 A (HUBBELL EARL A ET AL)</p> <p>5. November 1996 (1996-11-05)</p> <p>Spalte 16, Zeile 52 -Spalte 18, Zeile 12</p> <p>Abbildung 10</p> <p>---</p>	<p>1,16</p>
A	<p>GB 2 270 189 A (THERMOTOR LIMITED)</p> <p>2. März 1994 (1994-03-02)</p> <p>Seite 1, Zeile 7 - Zeile 19</p> <p>---</p>	<p>11</p>
P,A	<p>DE 198 23 454 A (EPIGENOMICS GMBH)</p> <p>25. November 1999 (1999-11-25)</p> <p>Spalte 2, Zeile 42 -Spalte 4, Zeile 56</p> <p>Abbildung 2</p> <p>-----</p>	<p>1,6-8, 10,11, 13,14, 16,17</p>

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/DE 00/01540

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
US 5510270 A	23-04-1996	US 5405783 A	11-04-1995
		US 5143854 A	01-09-1992
		US 5744305 A	28-04-1998
		US 5445934 A	29-08-1995
		AT 110738 T	15-09-1994
		AT 175421 T	15-01-1999
		AU 651795 B	04-08-1994
		AU 5837190 A	07-01-1991
		AU 672723 B	10-10-1996
		AU 7765594 A	04-05-1995
		BR 9007425 A	21-07-1992
		CA 2054706 A	08-12-1990
		DE 69012119 D	06-10-1994
		DE 69012119 T	22-12-1994
		DE 69032888 D	18-02-1999
		DE 69032888 T	29-07-1999
		DK 476014 T	14-11-1994
		EP 0476014 A	25-03-1992
		EP 0619321 A	12-10-1994
		EP 0902034 A	17-03-1999
		EP 0953835 A	03-11-1999
		ES 2058921 T	01-11-1994
		ES 2129101 T	01-06-1999
		GB 2248840 A,B	22-04-1992
		HK 61395 A	05-05-1995
		HK 64195 A	05-05-1995
		HU 59938 A	28-07-1992
		IL 94551 A	30-03-1995
		JP 11315095 A	16-11-1999
		JP 11021293 A	26-01-1999
		JP 4505763 T	08-10-1992
		KR 9701577 B	11-02-1997
		KR 9701578 B	11-02-1997
		WO 9015070 A	13-12-1990
		NL 191992 B	01-08-1996
		NL 9022056 T	02-03-1992
		NO 301233 B	29-09-1997
		NZ 233886 A	25-02-1993
		SG 13595 G	16-06-1995
		US 5744101 A	28-04-1998
		US 5489678 A	06-02-1996
		US 5889165 A	30-03-1999
		US 5753788 A	19-05-1998
		US 5547839 A	20-08-1996
		US 5770456 A	23-06-1998
		US 5800992 A	01-09-1998
		US 5902723 A	11-05-1999
		US 5424186 A	13-06-1995
		US 5871928 A	16-02-1999
US 5293437 A	08-03-1994	KEINE	
US 5571639 A	05-11-1996	US 5593839 A	14-01-1997
		US 5856101 A	05-01-1999
GB 2270189 A	02-03-1994	KEINE	
DE 19823454 A	25-11-1999	AU 4896899 A	06-12-1999

Formblatt PCT/ISA/210 (Anhang Patentfamilie) (Juli 1992)

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/DE 00/01540

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
DE 19823454 A		WO 9960156 A	25-11-1999